تأثير الفطر الممرض *Beauveria bassiana* على الأدوار الحياتية المختلفة لحشرة خنفساء اللوبياء الجنوبية *Callosobruchus maculatus (Fab.)* (*Coleoptera :Bruchidae*)

حسام الدين عبد الله محمد صالح عماد احمد محمود العقري انتصار ادهم البياتي
قسم وقاية النبات / كلية الزراعة/جامعة بغداد

The effect of the fungus *Beauveria bassiana* on different stages of cowpea weevil *Callosobrushes Maculantus* (fab.) (Coleoptera: Bruchidae).

Hussam AldinA.M.Salih E.A.Mahmmod E.A.AL-Beaty,
Plant Protection Dept./ College of Agriculture/ University of Baghdad

ABSTRACT

A study in year 2006 show the effect of the fungus *Beauveria bassiana* in percentages of killing different stages of the insect cowpen weevil callosobrunchus maculates in three different dilutions 3.4×10^{-6} , $3.4 \times 10^{-5} \times 3.4 \times 10^{-6}$ spore/ML in constant temp. 28 ± 2 °C and R.H.75 ± 5%. The best dilution was 3.4×10^{-6} the percentage of egg hatching 30 % and percentage killing for the four larval in star was 43.3 # and also percentage killing at the pupae 70% and percentage killing of adult 100% male and female.

Key words : *Beauveria bassiana*_, cowpea weevil, percentage of killing, dilution 3.4×10^{-6}

المستخلص

أجريت دراسة عام ٢٠٠٦ لمعرفة التأثير القاتل للفطر Beauveria bassiana على تطور الأدوار المختلفة لحشرة خنفساء اللوبياء الجنوبية Callosobruchus Maculatus بالتخافيف الثلاثة 3.4 × ١٠$^{-٤}$ ن ٣.٤ × ١٠$^{-٥}$ ، ٣.٤ × ١٠$^{-٦}$ بوغ/مل في درجة حرارة ٢٨ ±٢ سليزية ورطوبة نسبية ٧٥ ± ٥%. وجد أفضل التخافيف بالتأثير هو ٣.٤ × ١٠$^{-٦}$ حيث بلغت نسبة فقس البيض اقل معدل ٣٠ % ونسبة قتل يرقات للعمر الرابع ٤٣.٣ % ونسبة موت العذارى ٧٠% ونسبة موت البالغات ذكور وإناث ١٠٠%.

كلمات مفتاحية : Beauveria bassiana ، خنفساء اللوبياء الجنوبية ، نسبة القتل ، التجفيف ٣.٤ × ١٠$^{-٦}$.

المقدمة :

تعد اللوبياء *Vigna sinensis* من المحاصيل البقولية المهمة لاحتوائها على مواد غذائية مهمة للإنسان كالبروتينات وبعض العناصر المعدنية كالحديد والكالسيوم والفسفور وبذلك تعتبر من مصادر الطاقة (١) تصاب اللوبياء بحشرة خنفساء اللوبياء الجنوبية مبكراً بالحقل مع بدء تكوين القرنات وترتفع نسبة الإصابة إلى أعلى معدل بعد التخزين ومن أهم مظاهر الإصابة مشاهدة الخنافس الحية والميتة مختلطة مع البذور (٢). يكمن ضرر هذه الآفة بوجود اليرقات داخل البذور إذ تقوم بحفر أنفاق أثناء تطورها وتتغذى على معظم محتويات البذرة . إن اليرقة الواحدة تستهلك حوالي ٥ % من وزن البذرة الواحدة إضافة إلى إن الحشرات لها القابلية على الطيران مما يزيد من سرعة إصابة البذور (٣).

إن الاستعمال المتكرر للمبيدات الكيميائية أدى إلى ظهور سلالات حشرية مقاومة لهذه المبيدات فضلاً عن الفعل التراكمي السام في المواد المخزونة وزيادة تكاليف وخطورة استعمال هذه المبيدات للانسان وتلوث البذور بها لذا أصبحت الحاجة ملحة للبحث عن وسائل جديدة للمكافحة (٤). أدخلت حديثاً عوامل المكافحة الإحيائية ضمن برامج متكاملة لمكافحة الآفات الحشرية من بينها استعمال الفطريات الممرضة للحشرات حيث تم تشخيص أكثر من ٤٠٠ نوع من الفطريات الممرضة للحشرات (٥) من بين هذه الأنواع الفطر *Beauveria bassiana* الذي استعمل في مكافحة العديد من الحشرات. يصيب هذا الفطر العديد من الحشرات مسبب لها مرض يسمى المسكردين الأبيض إذ يقوم الفطر بإفراز إنزيمات تساعده على اختراق الكيوتل للحشرات المصابة كذلك إنتاج السم الفطري *Beauvericin* المعزول من خيوط الفطر (٦). لذا هدفت الدراسة إلى دراسة التأثير القاتل للفطر لعدد الأدوار المختلفة للحشرة.

المواد وطرائق العمل :

المستعمرة المختبرية للحشرة :-

هيئت المستعمرة الحشرية لحشرة خنفساء اللوبياء الجنوبية بعد الحصول على كمية من بذور اللوبياء الجافة المصابة بها من الأسواق المحلية في بغداد ، شخص النوع قيد الدراسة في متحف التاريخ الطبيعي / جامعة بغداد.

استعملت قناني زجاجية ارتفاع ١٥ سم وقطر ٨ سم غطيت فوهتها بقماش من الاوركنزا وضعت فيها حشرات بالغة للخنفساء ذكور وإناث مع بذور لوبياء سليمة وربط قماش الاوركنزا برباط مطاطي منعاً لهروب الحشرات.

وضعت القناني الزجاجية في الحاضنة بدرجة حرارة ٢٨ ± ٢ ْ سليزية ورطوبة نسبية ٧٥ ± ٥% جددت المستعمرة بعد كل جيل.

المستعمرة الفطرية :-

حصل على عزلة محلية للفطر *B.bassiana* ذات الرمز BJH.12=53 من مختبر الإدارة المتكاملة للآفات /كلية الزراعة/جامعة بغداد.

نشطت وكثرت هذه العزلة على الوسط الزراعي المعقم potato sucrose agar (PSA) (٧) بدرجة حرارة ٢٥ ± ٢° سليزية بعد اسبوع من الزرع اصبحت جاهزة للاستعمال ، هيئ العالق البوغي للفطر بإضافة ١٠ مل من ماء مقطر معقم لكل طبق من مزرعة الفطر بعمر ٧–١٠ أيام فصلت الابواغ باستعمال الناقل المعدني المعقم Loop ولغرض الحصول على التخافيف المطلوبة استعملت طريقة التخفيف والعد باستعمال شريحة Neubauer Hemocytometer حصل على التخافيف ٣.٤×١٠$^{-٤}$، ٣.٤×١٠$^{-٥}$، ٣.٤ × ١٠$^{-٦}$ بوغ /مل استعملت في الدراسة اللاحقة.

دراسة التأثير المباشرة للفطر *B.bassiana* في بقاء الحشرة :-

دراسة التأثير في نسبة فقس البيض :-

حصل على بيض بعمر ١ – ٢٤ ساعة من المزرعة وضعت البيوض في طبق بتري . غطست البذور في كل تخفيف لمدة ١٠ دقائق إضافة إلى معاملة السيطرة غطست في ماء مقطر معقم فقط وضعت البذور بعدها في أطباق بلاستيكية ارتفاع ١.٥ سم قطر ٦ سم وضع ١٠ بذور في كل طبق وبثلاث مكررات لكل تخفيف ، حضنت الأطباق بدرجة ٢٥ ± ٢° سليزية. سجلت نسبة فقس البيض . مدة حضانة البيض ، مدة حضانة الدور اليرقي ، نسبة اليرقات الميتة ، مدة الدور العذري ، نسبة العذارى الميتة ، عدد البالغات وطول عمرها.

دراسة التأثير في الطور اليرقي الرابع والعذارى والبالغات :-

استعملت التخافيف ٣.٤ × ١٠$^{-٤}$ ، ٣.٤ × ١٠$^{-٥}$ ، ٣.٤ × ١٠$^{-٦}$ بواسطة مرشة يدوية صغيرة سعة ١٠ مل على البيوض واليرقات والعذارى والبالغات وبواقع ١٠ معاملة لكل تخفيف ودور وبثلاثة مكررات لكل معاملة اما معاملة السيطرة رشت بالماء فقط

التحليل الإحصائي :- تجربة مختبرية وفق التصميم CRD وحللت النتائج باستعمال النموذج :

$$Yij=M+Ti+eij$$

حيث

Yij = الصفة المدروسة

M = المتوسط العام

Ti = تأثير المعاملة

eij = الخطأ التجريبي

باستعمال النظام الإحصائي الجاهز spss (١٩٩٨) Statistical package for social science ولاختبار معنوية الفروق بين المعاملات استعمل اختبار دنكن متعدد المديات Duncan١٩٥٥.

النتائج والمناقشة :-

اوضح الجدول (١) إن التخفيف ٣.٤ × ١٠-٦ كان أفضلها حيث أعطى نسبة مئوية لفقس البيض بلغت ٣٠ % والذي اختلف معنوياً عن التخفيفين الآخرين أما النسبة المئوية للفقس في السيطرة بلغت ١٠٠%.

جدول (١) تأثير الفطر *B.bassiana* بثلاثة تخافيف في بيض حشرة خنفساء اللوبياء الجنوبية *C.maculatus* وتطوره

المعاملات بوغ/مل	% فقس البيض	% لليرقات الميتة	% للعذارى الميتة	% لبزوغ البالغات
٣.٤ × ١٠-٤	b 3.3 ± 56.7	A ٥.٦ ± 5.6	b 11 ± 55.6	b 6.7 ± 39.0
٣.٤ × ١٠-٥	b 0.0 ± 60.0	A 0.0 ± 0.0	c 5.5 ± 72.17	b 5.7 ± 27.8
٣.٤ × ١٠-٦	c 0.0 ± 30.0	a 0.0 ± 0.0	b 11 ± 55.0	b 11 ± 44.4
السيطرة	a 0.0 ± 10.0	a 3.3 ± 3.3	a 3.3 ± 3.3	a 6.7 ± 93.3

الأحرف المختلفة ضمن العمود الواحد تدل على وجود فروقات معنوية بين المعاملات على مستوى احتمال $p \leq$ ٠.٠٥ حسب اختبار دنكن المتعدد المديات.

أما النسبة المئوية لليرقات الميتة لم تختلف معنوياً بين التخافيف والسيطرة وكانت النسبة المئوية في التخفيف ٣.٤ × ١٠-٤ ٥.٦ % بينما النسبة المئوية للعذارى الميتة بلغت أعلاه في التركيز ٣.٤ × ١٠-٥ حيث كانت ٧٢.١٧ % وهي اختلفت معنوياً عن بقية المعاملات كذلك النسبة المئوية لبزوغ البالغات بلغت أدناها في التركيز ٣.٤ × ١٠-٥ إذ بلغت ٢٧.٨%.

قد يعزى تأثير الفطر على البيض لسببين إنبات ابواغ الفطر عليها ونفاذ خيوطه الى الداخل من غلاف البيضة والتأثير على نمو وتطور البيضة وفشل عملية الفقس (٨) . وتتطابقت النتائج مع ماجاء به (٩) من ان نسبة قتل ثاقبة الحبوب الصغرى الفاقسة من بيض معامل بالتخافيف ٤ × ١٠-٥ ، ٣ × ١٠-٥ ، ٢ × ١٠-٥ بوغ/مل من الفطر *B.bassiana* ولكن اختلفت معنوياً عن معاملة السيطرة.

التأثير في الطور اليرقي الرابع وتطوره:-

يتضح من نتائج جدول (٢) ان مدة الطور اليرقي الرابع ادادت بزيادة تركيز العالق البوغي للفطر لتصل الى ١١.٣ يوم وبفروق معنوية عن السيطرة ٥.٤ يوم.

جدول ٢. تاثير الفطر *B.bassiana* بالتخافيف الثلاثة في الطور اليرقي الرابع وتطور خنفساء اللوبياء الجنوبية *C.Maculatus*

المعاملات بوغ/مل	مدة الطور اليرقي الرابع	% لليرقات الميتة	% للعذارى الميتة	% لبزوغ البالغات
٣.٤ × ١٠$^{-٤}$	a 0.0 ± 7.0	bc 8.8 ± 26.7	ab 10.0 ± 10.0	b 8.8 ± 26.7
٣.٤ × ١٠$^{-٥}$	b 1.0 ± 9.3	c 8.8 ± 43.3	b 3.3 ± 16.7	b 3.3 ± 13.3
٣.٤ × ١٠$^{-٦}$	b 0.3 ± 11.3	c 8.8 ± 43.3	b 3.3 ± 23.3	b 5.8 ± 10.0
السيطرة	a 0.2 ± 5.4	ab 6.7 ± 6.7	a 0.0 ± 0.0	a 6.7 ± 93.3

الأحرف المختلفة ضمن العمود الواحد تدل على وجود فروقات معنوية بين المعاملات على مستوى احتمال ٠.٠٥ حسب اختبار دنكن المتعدد المديات.

تفاوت النسبة المئوية لليرقات الميتة في التخفيف الثاني والثالث لتصل ٤٣.٣ % وبفروق معنوية عالية عن معاملة السيطرة في حين لم تكن فروق معنوية بين التركيز الأول ومعامل السيطرة ٢٦.٧و٦.٧%على التوالي ، أما النسبة المئوية للعذارى الميتة وصلت الى ٢٣.٣ % عند التركيز الثالث وبفروق غير معنوية عن التركيز الآخرين إلا إنها كانت معنوية عن معاملة السيطرة التي بلغت ٠.٠%.اختلفت النسب المئوية لبزوغ البالغات في التخافيف الثلاثة عن معاملة السيطرة وكانت اقل نسبة بالتخفيف الثالث منه بلغت ١٠.٠% .

يمكن أن يعزى سبب موت اليرقات لكون الفطر *B.bassiana* نسب قتل عالية ليرقات خنفساء الطحين الحمراء حيث تستطيع الكوندیا للفطر الملتصقة على الكيوتكل من امتصاص مغذيات جسم اليرقة التي تساعدها على النمو يعد تحطيمها لجدار الجسم (١٠) واحدث نفس الفطر نسب قتل ليرقات الطور الرابع لحشرة حفار ساق الذرة *Sesamia Cretica* بلغت ٧٨.٣% يعد سبب المرض المعاملة وقد يعزى السبب هو اختراق الفطر لجدار الجسم الكايني عن طريق التحلل الإنزيمي كما إن اليرقات المصابة تصبح مصدر جديد لإصابة اليرقات (٨) .

التاثير في الدور العذري :-

ومن ملاحظة جدول٣ نلاحظ إن هناك فروقات معنوية بين التراكيز المستعملة نفسها وبين معاملة السيطرة حيث بلغت مدة الطور العذري أطولها في التركيز ٣.٤×١٠$^{-٦}$ كانت ١٢.٢يوم مقارنة مع السيطرة التي بلغت ٩.٠يوم أما النسبة المئوية لقتل العذارى كانت أعلاها في تخفيف٣.٤×١٠$^{-٦}$ حيث بلغت ٧٠.٠% مقارنة بالمقارنة ١٠%. أما النسبة المئوية لبزوغ البالغات بلغ أدناه في التخفيف ٣.٤×١٠$^{-٥}$ حيث بلغت ١٠.٠% مقارنة بالسيطرة ٩٠.٠% أما معدل طول عمر البالغات بلغ أدناه في التخفيف ٣.٤×١٠$^{-٦}$ حيث بلغ ٤.٣يوم مقارنة بالسيطرة ١١يوم والذي اختلف عنه معنوياً.

تقاربت نسبة قتل العذارى في هذه الدراسة مع ما أجراه (٨) اذ سبب نفس الفطر نسب قتل للعذارى حشرة حفار ساق الذرة ٨٩.١٦% .أما (١١) ذكر إن معاملة عذارى حشرة درنات البطاطا بالفطر *B.bassiana* عند التخفيف ١٦.٥× ١٠$^{-٨}$ بوغ /ملم أطال مدة التعذر إلى ٨.٩ يوم ووصلت النسبة المئوية للبوغ ٢٦.٦ % مقارنة مع معامل السيطرة ١٠٠% وقد قصر معدل عمر البالغة إلى ثلاثة أيام مقارنة بمعاملة السيطرة ١٢.٦ يوم .

جدول ٣. تاثير الفطر *B.bassiana* بالتخافيف الثلاثة في الطور العذري وتطور حشرة خنفساء اللوبياء الجنوبية *C.Maculatus*

المعاملات بوغ/مل	مدة الطور العذري (يوم)	% لليرقات الميتة	% للعذارى الميتة	% لبزوغ البالغات
٣.٤×١٠^{-٤}	a 0.6 ± 8.2	b 3.3 ± 43.3	b 8.8 ± 26.7	b 0.7 ± 8.1
٣.٤×١٠^{-٥}	b 0.9 ± 10.0	b 3.3 ± 43.3	c 0.0 ± 10.0	b 0.1 ± 8.9
٣.٤×١٠^{-٦}	c 0.7 ± 12.2	c 10.0 ± 70.0	b 6.7 ± 16.7	c 0.3 ± 4.3
السيطرة	a 0.0 ± 9.0	a 5.8 ± 10.0	a 5.8 ± 90.0	a 0.0 ± 11

الأحرف المختلفة ضمن العمود الواحد تدل على وجود فروقات معنوية بين المعاملات على مستوى احتمال ٠.٠٥ حسب اختبار دنكن المتعدد المديات.

التأثير في البالغات :-جدول ٤ يوضح أن النسبة المئوية لموت البالغات ازدادت حسب التخافيف من ٤٠% في التخفيف ٣.٤×١٠^{-٤} الى ١٠٠% في التخفيف ٣.٤×١٠^{-٥} و٣.٤×١٠^{-٦} مقارنة بالسيطرة ١٣.٣%.أما الإناث كانت ٣٣.٣% في التخفيف ٣.٤×١٠^{-٤} وصلت ١٠٠% في التخفيفين التاليين أما بالسيطرة ٦.٧% وكانت الفروق معنوية بين التخفيف الأول و الآخرين مقارنة بالسيطرة .

تمثل أعراض الإصابة بالفطر عدم قابلية البالغات على الطيران أو التزاوج أو وضع البيض وعند الفحص المجهري تظهر خيوط الفطر البيضاء بين الرأس والصدر وبين قطع الأرجل والحلقات البطيئة وكذلك عند المخرج والذي يسبب هلاك البالغات هذه النتيجة تتفق مع ما ذكره(١٢) والذي اثبت إن الفطر يسبب نسبة قتل ١٠٠% لبالغات الذبابة المكسيكية *Anastrepha iudens* خلال ٢٠٨ يوم عند التخفيف ١٠×٣.١٢^{-٦} بوغ/ملم . وكذلك لوحظ نمو الفطر على الأجزاء الرخوة من جسم الحشرة مثل قواعد الأجنحة ، الفم وغيرها اتفقت النتيجة مع (١٣) إذ وضح إن نفس الفطر سبب نسبة قتل ١٠٠ % عند التركيز $١٠^{٧}$ بوغ/م لبالغات بقة *Rhodnius pallesens* ولم تختلف معنوياً بين كلا الجنسين.

أوضح (٦) إلية تأثير الفطر على جسم الحشرة المصابة بأنه عند تلامس الفطر *B.bassiana* مع كيوتكل الحشرة العائل تنمو الكوتيريا الى داخل التجويف الداخلي للعائل وعندها يتكاثر

جدول ٤. تأثير الفطر *B.bassiana* بالتخافيف الثلاثة في نسب موت البالغات ذكور وإناث لحشرة خنفساء اللوبياء الجنوبية *C.Maculatus*

المعاملات بوغ/مل	% موت البالغات	
	ذكور	إناث
٣.٤ × ١٠$^{-٤}$	b 11.6 ± 40.0	b 6.7 ± 33.3
٣.٤ × ١٠$^{-٥}$	c 0.0 ± 100.0	c 0.0 ± 100.0
٣.٤ × ١٠$^{-٦}$	c 0.0 ± 100.0	c 0.0 ± 100.0
السيطرة	a 0.0 ± 13.3	a 0.0 ± 6.7

الفطر داخل الجسم منتجاً سموم تستنزف غذاء الحشرة وأهمها سم Beuavericin ثم تقتلها وبعدها يبدأ الفطر بالنمو الى خارج جسم الحشرة من خلال الأجزاء الرخوة من الكيوتكل مغطية جسم الحشرة بطبقة من الكتلة الفطرية بيضاء اللون.

المصادر:

1- Martazif; T.(2005). Production of vegetable . Drijufno Ezdatel ctfo sofia. Bulgaria pp 195.

٢- جرجيس، سالم جميل ، حمزة كاظم دعيبس و محمد عبد الكريم محمد (٢٠٠٠). حشرات المحاصيل الحقلية. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي ، مطبعة جامعة الموصل. ٣٣٠ صفحة.

3- Godfry,L.D.(2004). Dry Bean Weevils. UC LPM pest management Guidelines. UC NAR publication pp.45.

4- Verporte, R. and A.W.Alferman (2000). Metabolic Engineering of plant secondary metabolism . Kluwer Academic Publisher pp230.

5- Dales ,M.I.(1994). Controlling insect pests of stored products using insect Growth Regulators and insecticides Microbial Origin. Natural Resources Institute (NRI) .(1):22-25.

6- Groden ,E.(1999). Using Beauveria bassiana for insect management . University of connection. Insect pest management . New England Vegetable and Berry Growers Conference and Trade Show , Sturbridge. MA.313-315P.

٧- البهادلي ، حسين مكطوف ديوان (٢٠٠٣). دراسة بعض الصفات الإحيائية لعزلات الفطر *Beauveria bassiana* كعامل للمكافحة الحيوية لحشرة ذبابة الياسمين البيضاء *Aleuroclava Jasmini* رسالة ماجستير ، كلية العلوم / الجامعة المستنصرية.

٨- الحيدري ، عادل امين يوسف (٢٠٠٢) دراسات مختبريه وحقليه حول تاثير الفطر *Beauveria bassiana* في حفار ساق الذره Sesamia cretica رسالة ماجستري ، كلية الزراعه جامعة بغداد .

٩- جاسم ، هناء كاظم (٢٠٠٢) تاثير بعض عوامل المكافحه الاحيائيه في السيطره على حشرة ثاقبة الحبوب الصغرى Rhyzopertha dominica (عدد خاص) مجلد (٧) عدد (٥) ص ٩٨-١٠٤ . مجلة الزراعه العراقيه على بذور الرز .

10- Akbar,W.;J.Lord; J.Nechols and R.Howard (2003). Diatomaceous earth increase the efficiency of Beauveria bassiana against Tribolium castanium Larvae and increases conidia attachment. J.Eco.Entomol.,97,2:273-280p.

11- Hafe Z, M.; F.N.Zaki; A.Moursy; M.Sabbour (1994). Biological effects of entomopathogenic fungus Beauveria bassiana on potato tuber moth Pnthorimaea operculella.Journal of Islamic Academy of Science. 7.4.15-22.

12- Dela,Rosa, W.;F.L.Lope Z;and P. Liedo(2001). Beauveria bassiana as a pathogen of Mexan fruit fly under laboratory condition.J.Econ.Entomol.,95,1:36-43.

13- Pineda,G.F.;Y.S.Osorio; O.J.Calle and S.U.Soto (2003). Susceptibility of Rhodius Pallescens of fifth instar nymph to the action of Beauveria spp. Entomotrophica , 18,3:163-168.

(تاريخ استلام البحث).....(٢٠٠٩/٣/٣١)
(تاريخ قبول نشر البحث).....(٢٠١٠/٢/١٦)